



Gama ile Işınlanmış Karvedilol İlacının EPR Tekniği ile 295 Kelvinde İncelenmesi

Yunus Emre OSMANOĞLU*¹

¹Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Bölümü, 21280, Diyarbakır, Türkiye
*yazışılan yazar e-posta: yunus.osmanoglu@dicle.edu.tr

(Alınış: 15.08.2018, Kabul: 23.10.2018, Yayımlanma: 31.11.2018)

Özet: Bu çalışmada kardiovasküler tedavisinde kullanılan karvedilol ilacının gama ile ışınlanmasının ardından yapısında oluşan serbest radikaller 295 Kelvin sıcaklıkta incelendi. Işınlanmamış toz halindeki karvedilol örneğinde herhangi bir EPR sinyali gözlenmezken, ışınlanmış örneklerin belirgin sinyaller sergiledikleri gözlemlendi. Işınlanmış örneklerde, ışınlama dozuna bağlı olarak EPR sinyallerinin belirgin artışı gerçekleşti. Örneğin artan radyasyon dozuna bağlı sinyal şiddetindeki artışı tanımlayan matematiksel denklemler ve korelasyon katsayıları hesaplandı. Sonuçların mevcut literatür verileri ile uyum içinde olduğu tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Elektron paramanyetik rezonans, Serbest radikal, Gama ışınlama

Investigation of Gamma Irradiated Carvedilol Drug by EPR Technique at 295 Kelvin

Abstract: This study aims to investigate free radicals produced after gamma irradiation of carvedilol, the drug used in the treatment of cardiovascular, at 295 Kelvin. While unirradiated powder samples of carvedilol do not exhibit any EPR signal, irradiated samples exhibited a sharp and clear EPR signal. After the irradiation of the samples with gamma rays, EPR signal intensities were increased significantly based on the irradiation dose. Mathematical functions and correlation coefficients were calculated determining the relation between the increasing radiation doses on the signal intensities of the sample. The results were found to be in good agreement with the existing literature data.

Key words: Electron paramagnetic resonance, Free radicals, Gamma irradiation

1. Giriş

Tıbbi cihazları sterilize etmek için gama ışınları ve hızlı elektron demetleri çok sıklıkla kullanılmaktadır [1]. Elektron paramanyetik rezonans (EPR) spektroskopisi, ışınlanmış gıdaların ve ilaçların radyasyon alınganlığını belirleyen en güvenilir metottur. Işınlamadan sonra örnekte oluşan serbest radikallerin yapısının ve cinsinin belirlenmesi için literatürde birçok EPR çalışmaları vardır [4-9]. Basly ve arkadaşları kefetetan ilacı için dozimetrik olarak radyosterilizasyon çalışmalarını EPR spektroskopisi kullanarak yapmışlardır [10]. Ambroz ve arkadaşları, metronidazol ve ornidazol antibiyotiklerini spektroskopik olarak incelerken deneysel sonuçların, üstel fonksiyonlar ve güç fonksiyonları ile uyumlu olduklarını belirlemişlerdir [11]. Buna benzer bir çalışma Damian tarafından bazı anti-emetik ilaçlar için yapılmıştır [12]. Dozimetrik malzemeler, lineer bir doz-cevap eğrisi, keskin spektral çizgiler, yüksek bir radikal ürünü ve oda sıcaklığında kararlı radikaller gösterir [13-14]. Gama ile ışınlanmış metoklopramid ve ondansetron ilaç örneklerinin EPR çizgi yoğunlukları değişik radyasyon dozlarında

Atf için: Y. E. Osmanoğlu, “Gama ile Işınlanmış Karvedilol İlacının EPR Tekniği ile 295 Kelvinde İncelenmesi”, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 13(2), 83-89, 2018.

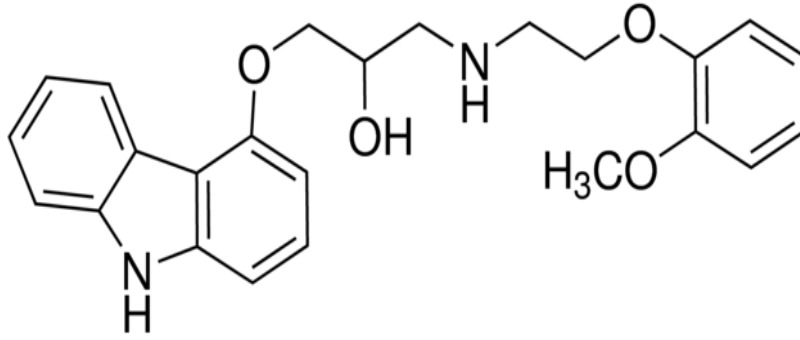
Damian tarafından incelenmiştir [15]. Çalışmada çizgi genişliği 2 mili Tesla (mT) ve spektroskopik yarıma çarpanı (g) $g = 2.0047$ olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada EPR spektroskopisi kullanılarak karvedilol ilaç hammaddesi dozimetrik olarak incelenmiştir.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan ilaç örneği ticari kataloglardan temin edilmiştir. Karvedilol'ün kimyasal formülü, molekül ağırlığı (g/mol) ve kimyasal yapısı Tablo 1'de verilmiştir. Karvedilol (≈ 30 mg) tozu, farklı radyasyon dozlarında 15 kilogray (kGy) dozunda kobalt 60 gama kaynağı kullanılarak oda sıcaklığında (295 Kelvin) Türkiye Atom Enerjisi Kurumunda ışınlanmıştır. EPR ölçümleri Bruker model spektrometresi ile 9.985 mikrodalga gücünde, 9.731 Gigahertz (GHz) mikrodalga frekansında, 0.6 mT modülasyon büyüklüğünde, 100 kilohertz (kHz) manyetik alan modülasyon frekansında gerçekleştirilmiştir. g değeri, (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) DPPH örneğinin g ($g=2.0036$) değeri ile karşılaştırılarak standardize edilmiştir.

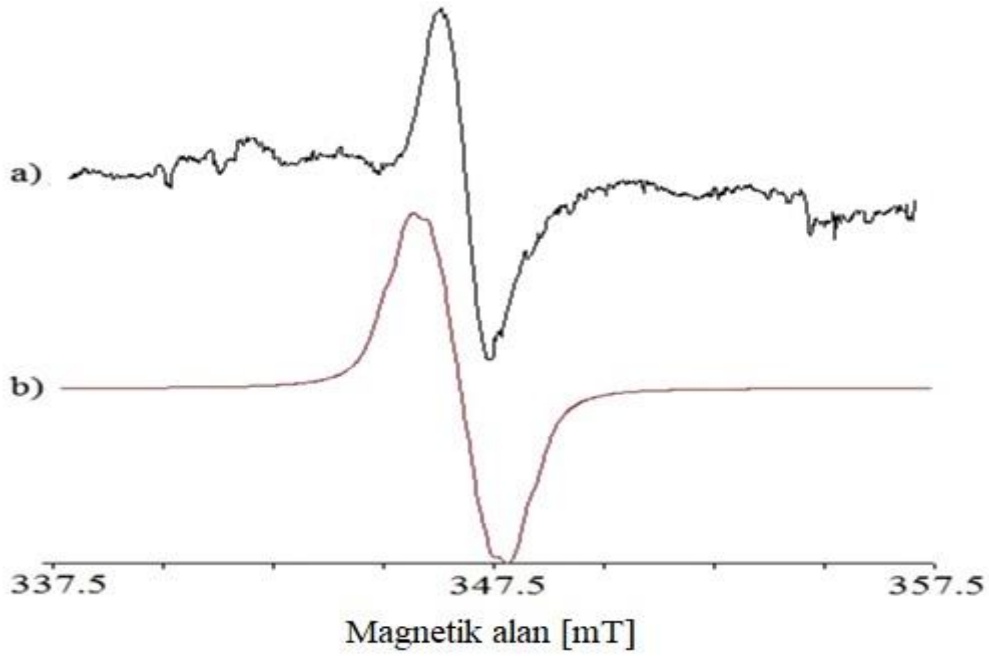
Tablo 1. Karvedilolün, kimyasal adı, kimyasal formülü, molekül ağırlığı (g/mol) ve kimyasal yapısı

Karvedilol, $C_{24}H_{26}N_2O_4$, 406.47



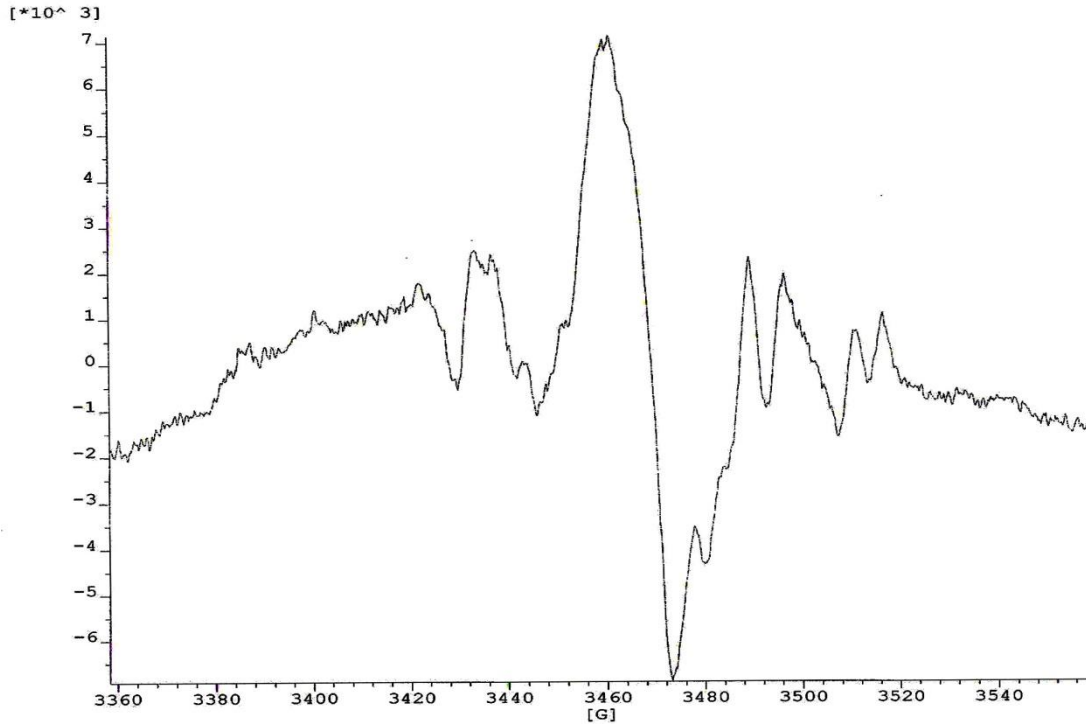
3. Bulgular

Karvedilol, güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olduğu belirlenmiş, seçici olmayan bir beta ve alfa-adrenerjik blokaj ajanıdır. Sonuçlar, karvedilol tedavisinin, parakuata maruz kalan farelerin akciğer dokusunda histopatolojik değişiklikleri geliştirdiğini göstermiştir [16]. Ayrıca, kliniklerde hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği ve koroner hastalık tedavisinde de kullanılmaktadır [17]. Gama ile 5 kGy ışınlanmış karvedilol numunesinin EPR spektrumu Şekil 1a'da gösterilmiştir. Spektrum $g = 2.0052 \pm 0.0005$ merkezli geniş bir EPR sinyalinde oluşmaktadır. Spektrumun çizgi genişliği (ΔH) 0,5 mT'dir. Bu değer literatürle uyumludur [18,19]. Şekil 1b'de verilen simülasyon spektrumu sırasıyla $a_\alpha = 0,9$ mT, $a_{\beta_1} = a_{\beta_2} = 0.6$ mT, $a_{NH} = 0.4$ mT ve $a_N = 0.33$ mT aşırı ince yapı sabitleri kullanılarak elde edilmiştir. Şekil incelendiğinde, deneysel ve simülasyon spektrumunun oldukça uyumlu olduğu gözlenmektedir. Singlet yapıdaki spektrumdan EPR parametrelerini elde etmek zor olduğundan spektrumun simülasyonu bilgisayar yazılımı kullanılarak elde edilmiştir. Simülasyon yardımıyla numuneye ait aşırı ince yapı sabitleri elde edilmiştir. Elde edilen karmaşık singlet spektrum, $\dot{C}HCH_2NH$ radikale atfedilmiştir. Bu radikal, iminodiasetik asitten elde edilen radikale benzerdir [20].

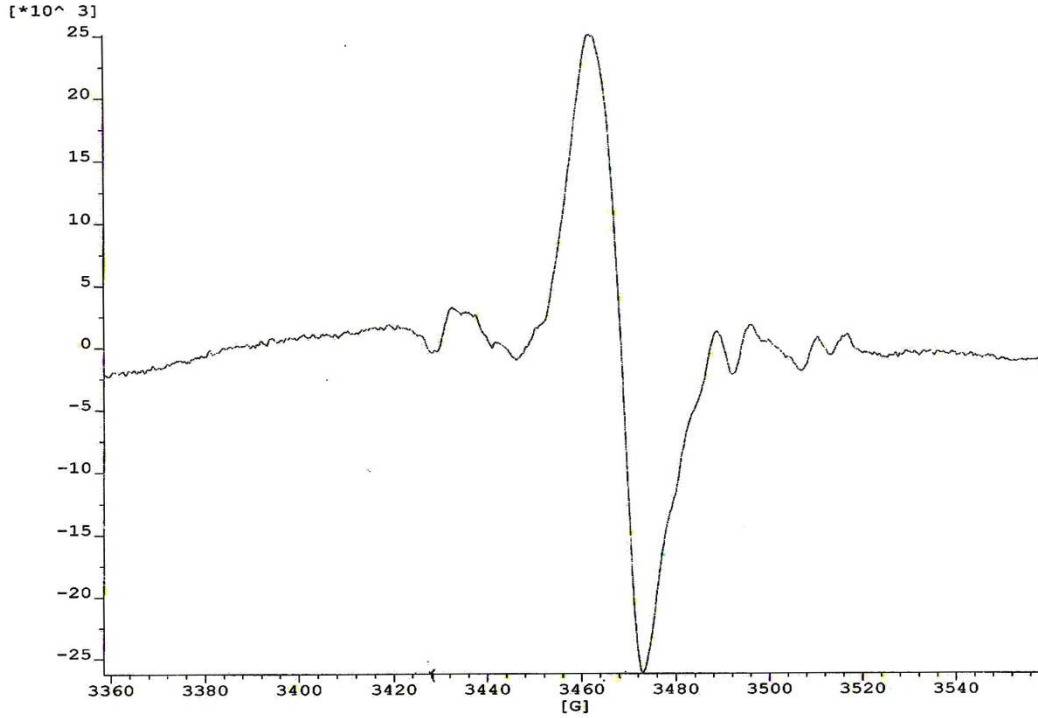


Şekil 1. a) 5 kGy ışınlanmış karvedilol numunesinin deneysel EPR spektrumu b) 5 kGy ışınlanmış karvedilol numunesinin simülasyon spektrumu

Şekil 2a ve 2b’de verilen spektrumlar incelendiğinde, ışınlama dozlarındaki artışa bağlı olarak, örneğin sinyal şiddetinin önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Bu durum, numune tarafından soğrulan radyasyon miktarındaki artışın numunede oluşan serbest radikal sayısını artırdığı şeklinde yorumlanmıştır[13]. Radyasyon dozunun 15 kGy'e kadar artmasına rağmen, spektrum formunda hiçbir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca, farklı absorbe edilen dozlarda kaydedilen deneysel spektrumlarda yapılan ölçümlerde, spektrumların g değerinin ve ΔH çizgi genişliğinin hemen hemen aynı kaldığı belirlenmiştir.

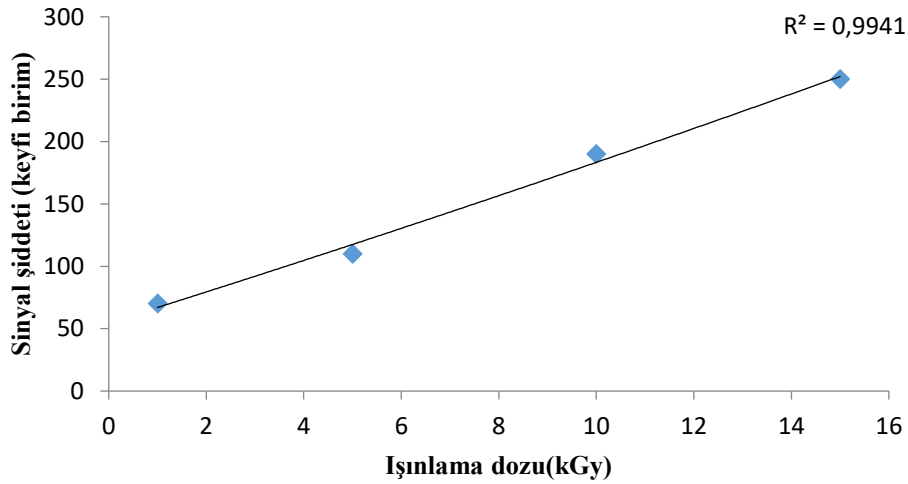


Şekil 2a. 1 kGy ışınlanmış karvedilol numunesinin deneysel spektrumu



Şekil 2b. 15 kGy ışınlanmış karvedilol numunesinin deneysel spektrumu

Karvedilol örneğinin doz-cevap eğrisini elde etmek için 0-15 kGy doz aralığında ışınlanan örnekler kullanıldı. Şekil 3'te gösterilen sonuçlarda kareler deney sonuçları, bunları birleştiren eğriler ise deneysel sonuçlara en yakın matematiksel fonksiyonu temsil etmektedir. Deneysel ve hesaplanan verilerin birbirleri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Dozimetrik çalışmalarda doğrusal, üstel ve polinom fonksiyonları sıklıkla kullanılmaktadır [21,22].



Şekil 3. Karvedilol numunesin doz-cevap eğrisi

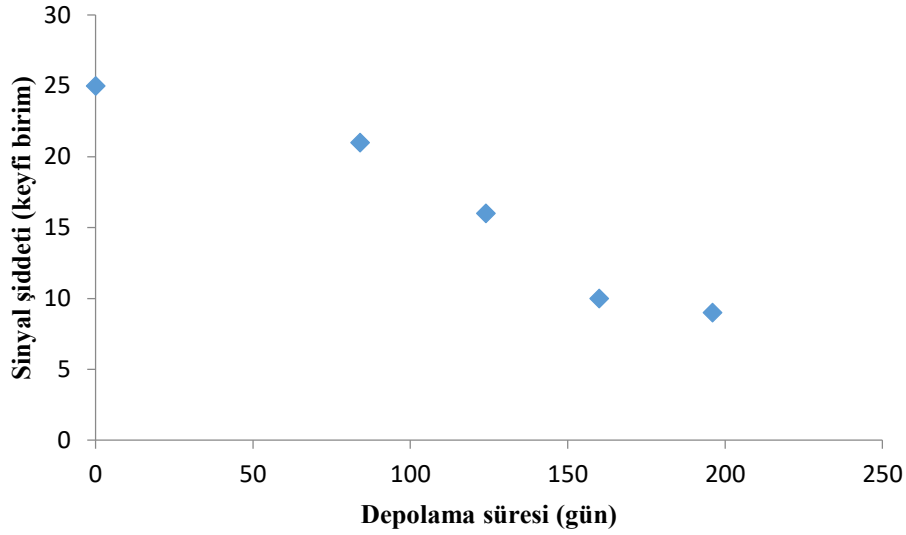
Farklı dozlarda ışınlanmış karvedilolün en iyi uyumu gösterdiği matematiksel denklemler ve korelasyon katsayısı (R^2) Tablo 2'de verilmiştir. Bu fonksiyonlarda kullanılan I EPR sinyal şiddetini; D ise ışınlama miktarını göstermektedir. Tablo 2

incelendiğinde numunenin en iyi uyumu 0.9941 korelasyon katsayısı ile polinom fonksiyonu ile gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 2. Gama ile ışınlanmış karvedilol numunesi için hesaplanan matematiksel denklemler ve korelasyon katsayıları

Fonksiyonlar	Parametreler	R ²
$I = aD^2 + bD + c$	a = 0.0601 b = 12.262 c = 54.698	0.9941
$I = aD + b$	a = 13.228 b = 52.483	0.9938
$I = ae^{bD}$	a = 67.58 b = 0.0924	0.9773
$I = aD^b$	a = 64.525 b = 0.4606	0.9362
$I = \ln(D) + b$	a = 62.171 b = 52.106	0.8463

İlaçların ışınlanmasına bağlı olarak elde edilen sinyaller, raf ömrü boyunca test edilebilmelidir [21]. Depolamanın serbest radikal konsantrasyonu üzerine bir etkisinin olup olmadığını araştırmak için EPR sönüm sinyalleri incelendi. Numuneye ait EPR spektrumları 200 günlük süreçte düzenli aralıklarla oda sıcaklığında kaydedildi. 15 kGy ışınlanan karvedilol örneğinin sönüm eğrisi Şekil 4'te verilmiştir. Şekildeki karelerle gösterilen veriler deney sonuçları göstermektedir. Sinyal şiddetinin 124. günün sonunda kaydedilen spektrumda yaklaşık olarak % 64'e düştüğü belirlenirken; 196 günün sonunda kaydedilen spektrumda ise sinyal şiddetinde % 64'lük bir kayıp olduğu hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar EPR spektroskopisinin, ışınlanmış karvedilol numunesinin depolama süresi boyunca ışınlanmamış olanlardan ayırmak için kullanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 4. Gama ile ışınlanmış karvedilol numunesin sönüm eğrisi

4. Sonuç ve Yorum

Işınlama işleminden önce alınan spektrumda herhangi bir sinyal gözlenmezken, numunenin belirli dozlarda gama ile ışınlanmasının ardından belirli sinyallerin elde edilmesi; numunede ışınlamadan sonra serbest radikallerin oluştuğunu ortaya koymaktadır. Gama ile ışınlanmış karvedilolde oluşan serbest radikallerin radyasyon duyarlılığı EPR spektroskopisi kullanılarak incelenmiştir. Sonuç olarak, karvedilol örneğinin deneysel verileri ile matematiksel denklemler arasındaki yüksek korelasyonun, herhangi bir doz değerinde karvedilol numunesinde oluşacak EPR sinyal şiddetini hesaplamamıza olanak sağlamaktadır. Ayrıca 200 günün sonunda bile numuneden belirgin sinyallerin elde edilmesi, ışınlama sonrasında yapıda kararlı radikallerin oluştuğunu göstermektedir. Bu kararlı yapıdan dolayı karvedilol örneğinin yüksek radyasyon dozu kullanılarak radyasyonla sterilize edilemeyeceği anlaşılmaktadır.

Kaynakça

- [1] J. Raffi, S. Gelly, L. Barral, F. Burger, P. Piccerelle, P. Prinderre P, and A. Chamayou, "Electron paramagnetic resonance of radicals induced in drugs and excipients by radiation or mechanical treatments," *Spectrochim. Acta Part A*, vol. 58, pp.1313-1320, 2002.
- [2] H. Murrieta, E. Munoz, E. Adem, G. Burillo, M. Vazquez, and E. Cabrera, "Effect of irradiation dose, storage time and temperature on the ESR signal in irradiated oat, corn and wheat," *Radiat. Isot. Vol. 47*, pp. 1657-1661, 1996.
- [3] K. Sütçü, Y.E. Osmanoğlu and F. Akbalık, " Investigation of radiosensitivity of gamma irradiated isoniazid antibiotic through EPR spectroscopy," *Anadolu University J. Scien.Tech.* vol.17, pp.753-740, 2016.
- [4] Ş. Çolak, A. Maquille, and Tilquin B, "Chemical analysis applied to the radiation sterilization of solid ketoprofen," *Radiat. Eff. Defects Solids* vol. 161, pp. 75-80, 2006.
- [5] Ş. Osmanoğlu, "Electron paramagnetic resonance of radiation damage of γ -irradiated diethylmalonic acid," *J. Mol. Struct. Vol. 877*, pp.7-9, 2008.
- [6] Ş. Osmanoğlu, F. Köksal, I. Kartal, and F. Ucu, "Electron paramagnetic resonance of gamma-irradiated single crystals of two isobutyric acid derivatives," *Radiat. Phys. Chem. Vol.49*, pp. 419-420, 1997.
- [7] K. Sütçü, and Y.E. Osmanoğlu, "The effect of gamma radiation on some succinic acid derivatives in the solid state," *J. Mol. Struct.* vol. 1127, pp. 476-478, 2017.

- [8] Y.E. Osmanoglu, A.Tokatlı , K. Sütçü, Ş. Osmanoglu, and F. Ucun, “ Conformational, IR, NMR, and EPR analysis of ifosfamide by density functional theory calculation” *Monatshefte für Chemie* vol. 1154, pp. 428-436, 2017.
- [9] B.K. Singh, D.V. Parwate, I.B. Dassarma, and S.K. Shukla, “Investigation of effect of gamma radiation and electron beam,” *Appl. Radiat. Isot.* Vol.68, pp. 1627-1635, 2010.
- [10] J.P. Basly, I. Longy, and M. Bernard, “Radiosterilization dosimetry by electron-spin resonance spectroscopy: Cefotetan,” *Anal. Chim. Acta* vol. 359, pp. 107-113, 1998.
- [11] H.B. Ambrož , E.M. Kornacka, B. Marciniak, M. Ogródowczyk, and G.K. Przybytniak, “EPR study of free radicals in some drugs γ -irradiated in the solid state,” *Radiat. Phys. Chem.* vol. 58, pp. 357-366, 2000.
- [12] G. Damian, and V. Miclăuş, “Study of free radicals in gamma-irradiated metoclopramide using spin trapping ESR spectroscopy,” *Rom. J. Biophys.* Vol. 15, pp. 121-126, 2005.
- [13] A.Lund, S. Olsson, M. Bonora, E. Lund, and H.Gustafsson, “New materials for ESR dosimetry.” *Spectrochim Acta A* vol. 58, pp. 1301-1311, 2002.
- [14] M. Ikeya, M. Hassan, H. Sasaoka, Y. Kinoshita, S. Takaki, and C. Yamanaka, “Strategy for finding new materials for ESR dosimeters,” *Appl. Radiat. Isot.* vol. 52, pp. 1209-1215, 2000.
- [15] G. Damian, “ EPR investigation of γ -irradiated anti-emetic drugs,” *Talanta*, vol. 60, pp. 923-927, 2003.
- [16] K. Amirshahrokhi , and A.R. Khalili, “Carvedilol attenuates paraquat-induced lung injury by inhibition of proinflammatory cytokines, chemokine MCP-1, NF- κ B activation and oxidative stress mediators. “ *Cytokine* , vol. 88: pp. 144-153, 2002.
- [17] Z. Li, B. Liu, B. Wang, Y. Liu, Y. Zhang, F. Tian, and D. Zhao. “Carvedilol suppresses cartilage matrix destruction”. *Biochem. Biophys. Res. Com.* Vol. 480, pp. 309-313, 2016.
- [18] H. Ambrož , E. Kornacka, B. Marciniak, G.J. Przybytniak . “.”Radical decay in irradiated drugs: Flutamide, ifosfamide,” *Radioanal. Nuc. Chem.* vol. 254, pp. 293-298, 2002.
- [19] R. Köseoğlu, E. Köseoğlu, and F. Köksal. “Electron paramagnetic resonance of some γ -irradiated drugs.” *Appl. Radiat. Isot.* vol.58, pp. 63-68, 2003.
- [20] M. Aydın, Y.E. Osmanoglu, and Başkan MH. “Electron paramagnetic resonance of γ -irradiated glycyl-l-glutamine monohydrate, iminodiacetic acid and methyliminodiacetic acid.” *Radiat. Eff. Defects Solids* vol. 163, pp. 47-53, 2008.
- [21] M.F. Desrosiers, “Estimation of the absorbed dose in radiation-processed food—2. Test of the EPR response function by an exponential fitting analysis.” *Int. J. Radiat. Appl. Instr. Part A* vol. 42, pp. 617-619, 1991.
- [22] A.A. Abdel-Fattah, “Identification and dose assessment of irradiated cumin by EPR spectrometry” *Appl. Radiat. Isot.* vol. 56, pp. 557-562, 2002.

Yunus Emre OSMANOĞLU, yunus.osmanoglu@dicle.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7338-7603>